

芸苔族几种植物花托离体培养直接出芽的研究*

张雪梅** 罗 鹏

(四川大学植物研究所, 成都 610064)

BUD PRODUCTION OF EXCISED RECEPTACLES CULTURED IN VITRO IN BRASSICAEAE

ZHANG Xue-Mei, LUO Peng

(Institute of Botany, Sichuan University, Chengdu 610064)

关键词 离体培养, 花托, 出芽, 芸苔族

Key words *in vitro* culture, Excised receptacles, Bud production, Brassicaceae

植物外植体离体培养时, 植物再生一般要先产生愈伤组织, 再由愈伤组织通过器官发生途径或胚胎发生途径再生小植株。植物生理研究所^[1]在油菜子房离体培养时, 观察到花托直接出芽。张谦(1989, 未发表)培养红豆草子房时, 花托部位直接出芽, 且观察到芽来自于花托边沿的表皮细胞或表皮下的薄壁细胞。作者等^[2]也观察到油菜和蓝花子杂种后代的花托在离体培养时也能直接产生小芽。上述一系列试验结果启发我们去探索花托离体培养直接出芽的普遍性, 花托离体培养直接出芽的机制, 以及花托离体培养出芽的应用前景等问题。因此, 近年来我们采用油菜和芸苔族几种植物作试验材料, 进行花托离体培养试验, 得到若干新的试验材料, 现报道如下。

材料和方法

试验材料 芸苔族植物有擘兰(*Brassica caulorapa*), 白菜型油菜(*B. campestris*), 埃塞俄比亚芥(*B. carinata*), 芥菜型油菜(*B. juncea*), 甘蓝型油菜(*B. napus*)。

萝卜属植物有蓝花子(*Raphanus sativus* var. *raphanistroides*)。

诸葛菜植物有诸葛菜(*Orychophragmus violaceus*), 毛果诸葛菜(*O. violaceus* var. *lsiocarpus*)。

试验方法 (1) 花托的离体培养: 将供试材料的子房摘下, 用 0.15% HgCl₂ 消毒无菌水冲洗, 在超净台上切去花柄, 切去花柄时注意不要损伤花托, 接种在培养基上, 竖立。注意使花托部位刚好接触培养基。基本培养基为 MS 培养基, 添加不同浓度的激素, 如 BA, NAA, GA₃ 等。(激素浓度参阅表 1)。(2) 花托出芽的组织细胞学观察: 由于诸葛菜是珍贵的油料植物资源^[3], 并且它的花托离体培养时较易出芽, 因此取离体培养 0, 1, 2, 3, 4, 9, 20 天的诸葛菜花托, 用卡诺氏液固定后, 铁矾-苏木精染色, 用常规石蜡制片法制成花托横切片标本, 在光镜下镜检。

*. 国家教委博士点基金资助项目, ** 作者现在成都生物制品研究所工作。

结果与讨论

1. 芸苔族几种植物花托离体培养直接出芽的观察

由表 1 及图 1 可知, 芸苔族几种植物在加入不同浓度激素(BA, NAA, GA₃)的改良 MS 培养基中离体培养时, 多种植物(如擘蓝、埃塞俄比亚芥、甘蓝型油菜、诸葛菜、毛果诸葛菜等)的花托能直接出芽。有的植物(如芥菜型油菜、蓝花子), 先从花托部位产生愈伤组织, 转入加有 BA 和 GA₃ 的新鲜培养基, 也有芽的分化。

表 1 芸苔族几种植物花托离体培养产生小芽

Tabbel 1 Bud production from excised receptacles cultured *in vitro* in some plants of Brassicaceae

MS +			植物名称 Plant name							
BA (ppm)	NAA (ppm)	GA ₃ (ppm)	<i>B. caulorapa</i>	<i>B. campestris</i>	<i>B. carinata</i>	<i>B. juncea</i>	<i>B. napus</i>	<i>R. sativus</i> var. <i>raphanistroroides</i>)	<i>O. violaceus</i>	<i>O. violaceus</i> var. <i>lasiocarpus</i>
1						愈伤组织 分化成芽		愈伤组织 分化成芽	直接出芽	直接出芽
3				愈伤组织		愈伤组织 分化成芽	愈伤组织 分化成芽	愈伤组织 分化成芽	直接出芽	直接出芽
3			愈伤组织 分化成芽	愈伤组织	愈伤组织 分化成芽	愈伤组织 分化成芽	直接出芽	愈伤组织 分化成芽	直接出芽	直接出芽
3	0.5	3	直接出芽	愈伤组织					直接出芽	直接出芽
3		6	直接出芽						直接出芽	直接出芽
3	0.25	6								直接出芽
5					直接出芽	愈伤组织 分化成芽	愈伤组织 分化成芽	愈伤组织 分化成芽	直接出芽	直接出芽
10									直接出芽	

* 花托愈伤组织转入添加 BA, GA₃ 的新鲜 MS 培养基中有芽的分化。

上述试验结果表明, 芸苔族多种植物的花托, 在添加有适当激素的 MS 培养基上能产生小芽, 其中许多植物的花托能直接出芽, 且有一定的普遍性。

2. 诸葛菜花托直接出芽的组织细胞学观察

为了探索植物花托离体培养时直接出芽的机制, 我们运用花托离体培养进时较易出芽的诸葛菜作试验材料。取离体培养 0, 2, 3, 4, 9, 20 天的诸葛菜子房固定后, 制成连续石蜡切片(横切)。镜检结果表明, 接种两天后的花托首先在髓中出现具有分生能力的细胞。这种细胞的细胞质浓厚, 核大, 并有清晰的核仁。这种细胞的细胞核首先分裂为二, 然后细胞质分裂并形成细胞壁。培养 4 天时已分裂成许多细胞团。培养 9 天时细胞团分化为不定芽。在有花托横切面上观察到 4—5 个不定芽, 它们都和花托的维管束组织有联系。半月后小芽便从花托部位陆续长出(图 1)。将花托的出芽部位切下, 连同已长出的小芽转入新鲜培养基继续培养, 花托上又会会长出许多小芽, 并迅速长成小苗。作者观察了这些芽的再生过程。从花托横切面上皮层的薄壁细胞中观察到正在分裂的细胞。由此种细胞分裂形成的 4 个细胞是规则的直线排列; 并继续分裂形成多细胞团, 它的细胞排列也较规则, 这些细胞都具有显著的细胞核。以后由多细胞团分化为小芽。在我们的试验中, 诸葛菜花托在添加适当激素的 MS 培养基上离体培养时, 花托较易直接出芽, 有的陆续形成芽簇(丛生芽)。将小芽切下, 经转接培养后, 能再形成小植株。用这种

方法,可以在短时间内获得大量小植株。看来运用花托离体培养直接出芽是植物快速繁殖的有效方法,在资源植物的开发利用上具有应用前景。

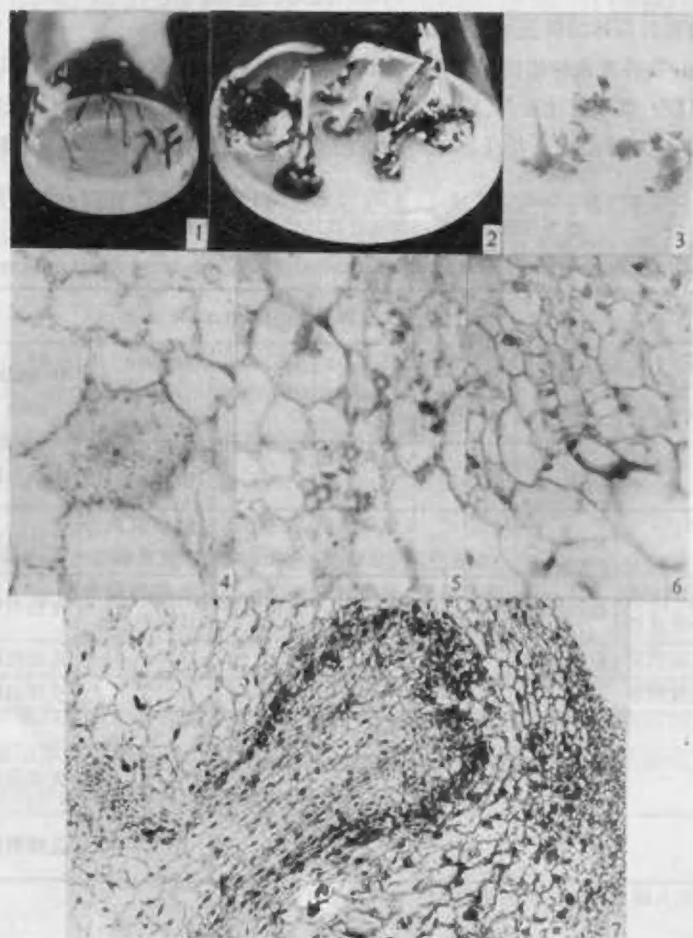


图 1 1—3. 花托离体培养直接出芽: 1. 擘蓝(*Brassicacaulorapa*); 2. 埃塞俄比亚芥(*B. carinata*); 3. 诸葛菜(*Orychophragmus violaceus*)。4—7. 诸葛菜花托髓部: 4. 1个分生细胞; 5. 分裂为2细胞; 6. 多细胞团; 7. 芽原基。

Fig. 1 1—3. Bud production from the cultured receptacle: 1. *Brassica caulorapa*, 2. *B. carinata*, 3. *Orychophragmus violaceus*). 4—7. In the pith of the cultured receptacle of *O. violaceus*: 4. A primordial cell; 5. Two cells; 6. A multicellular colony; 7. A bud primordium.

参考文献

- [1] 植物生理研究所. 油菜器官培养中器官分化能力的研究. 植物学报, 1977, 19(4): 30—31.
- [2] Luo P, Wang Z C, Deng C. Application of ovary and receptacle culture in rapeseed. *Genetic Manipulation in Crops Newsletter*, 1990, (1): 44—49.
- [3] 罗 鹏, 蓝泽莲, 黄 建等. 珍贵油料植物资源诸葛菜的研究. 自然资源学报, 1991, 6(3): 206—210.